-Technical information-
BLR-R-08

HITACHI
Inspire the Next

ALOKA
illuminate the change

黒豆発芽発酵エキスの開発とその活性酸素消去率

ご協力：岡山学院大学　食物栄養学科食品素材開発研究室　松下至　先生

【研究目的】

黒豆発芽醗酵エキスを調整し、そのエキスをフラッシュクロマトグラフィーを用いて、MeOH濃度差（25%、90%）により分画・分取する。この分画液をロータリーエバポレーターで濃縮して、真空凍結乾燥機で粉末にする。この試料について抗酸化能を測定する。

【サンプル調整および測定方法】

原液は、発芽（発根部分が約1cmになった物）黒豆を膨潤させ、ホモジナイズした。ホモジネートに等量の米麹を加えて25～30℃で48時間発酵させた。その後、試料を濾過し、黒豆発芽発酵エキスを得た。この原液をフラッシュクロマトグラフィー（充填剤：コスモシールC18－OPN）で分画して、25%メタノール分画液と90%メタノール溶液を得た。

－フラッシュクロマトグラフィーの条件－

Table 1 Flash chromatography condition

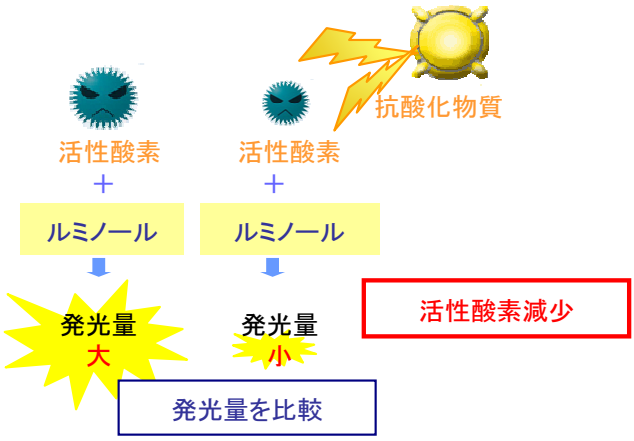
Column	Cosmosil C18OPN	
Mobile phase	Step-gradient	①5% CH_3OH, 0.2% CH_3COOH – 100 ml
		②25% CH_3OH, 0.2% CH_3COOH – 100 ml
		③90% CH_3OH, 0.2% CH_3COOH – 100 ml
Detection	Visual	
Sample volume	40 ml	
Column temperature	24～27℃	
Flow rate	20 ml/min.	

【抗酸化能測定原理】

フェントン反応によって発生した活性酸素を、
化学発光法を利用して測定します。

※フェントン反応とは、金属イオンと過酸化水素によって、ヒドロキシルラジカルを生成する反応のことです。
人間の体内でも見られる反応です。

a) $Co_2^+ + H_2O_2 \rightarrow Co_3^+ + HO\cdot + HO^-$
b) Luminol - + HO· → light (430nm)
c) $O2\cdot^- + Co_3^+ \rightarrow O_2 + Co_2^+$



【測定手順】

手順①
試薬C10μLを精製水10mLに加えて希釈します。
1000倍希釈
【試薬C】　【精製水】

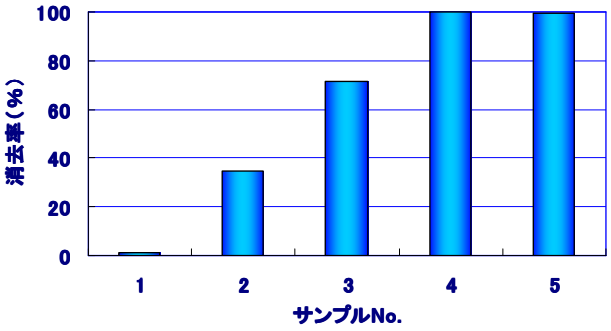
手順②
測定容器に試薬A・Bを各50μL、サンプルを20μL分注します。
【試薬A】【試薬B】【サンプル】

手順③
AccuFLEX Lumi400の測定室に測定容器をセットして、37℃、5分でプレインキュベーションを行います。
【化学発光測定装置 AccuFLEX Lumi400】

手順④
5分後に測定容器を取り出し、手順①の試薬Cの希釈液を50μL分注します。

手順⑤
測定容器をAccuFLEX Lumi400の測定室にセットして発光量を測定します。
【化学発光測定装置 AccuFLEX Lumi400】

【結果】



試料	活性酸素 消去率(%)
1.大豆(水煮)50倍希釈	1.2
2.レモン50倍希釈	34.4
3.原液50倍希釈	71.3
4.25%メタノール分画部50倍希釈	100.0
5.90%メタノール分画部50倍希釈	99.7

【考察】

・活性酸素の消去率をみることで抗酸化能を測定したデータである。
・黒豆発芽発酵エキス、メタノール抽出分画はいずれも明らかな抗酸化能を示した。
　このエキスの製造方法は、新規の方法である。
・25%メタノール分画は90%メタノール分画よりも高い抗酸化能を得た。
　その差を見ると、相対値比較では0.3%だが、実際の発光量では1桁以上だった。
・抗酸化能測定キットラジカルキャッチを用いることで、抽出した成分のスクリーニングを簡単に行うことができる。

■生物化学発光測定装置

AccuFLEX Lumi 400

ルミネッセンスリーダーAccuFLEX Lumi400は、
生物・化学発光を測定する装置です。

●食品などの抗酸化能測定に最適
●ルシフェラーゼアッセイ用の測定モード搭載
●生菌数を調べる際のATP測定
●加温機能、攪拌機能など便利な機能を搭載
●測定容器もさまざまなものに対応

操作しやすいタッチパネル

■抗酸化能測定キット

ラジカルキャッチ

食品などの機能性のひとつ、
抗酸化能を測定する測定キットです。

●化学発光法を利用した高感度な測定
●キット内の試薬を分注するだけの簡単手順
●水溶性・脂溶性サンプルなどに対応
●データの再現性が良く、保存も簡単

キットの構成 1キット(100テスト分)		
試薬A	5mL	1本
試薬B	5mL	1本
試薬C	1．5mL	1本
精製水	10mL	3本
付属品	取扱説明書	1部
保存方法	:冷蔵保存 推奨(2～8℃)	
使用期限	:製造後1年	

日立アロカメディカル株式会社
本社　〒181-8622　東京都三鷹市牟礼6丁目22番1号
医用分析システム営業部　(0422)45-5576
www.hitachi-aloka.co.jp